

University of Groningen

Hyperthermic cell killing

Ruifrok, Arnout Cornelis Christiaan

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1987

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Ruifrok, A. C. C. (1987). *Hyperthermic cell killing: role of the plasma membrane*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. [s.n.].

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

HYPERTHERME CELDOOD Rol van de plasmamembraan.

Samenvatting

Het gebruik van warmte bij de behandeling van kanker is al een oud idee. De laatste jaren staat de behandeling van tumoren met behulp van "hyperthermie" weer volop in de belangstelling. Een grote hoeveelheid biologische en klinische gegevens toont aan dat warmte zinvol kan zijn bij de behandeling van kanker. Speciaal in combinatie met straling zijn de resultaten veelbelovend.

Ten eerste maakt warmte de cellen stralingsgevoeliger. Ten tweede is een groep cellen die relatief stralingsongevoelig is, namelijk de cellen in slecht doorbloede gebieden die zuurstof-arm zijn, gevoelig voor warmte. Tevens speelt mee dat tumoren door verminderde doorbloeding beter te verwarmen zijn dan normaal, goed doorbloed weefsel.

Bij "hyperthermie" behandelingen wordt verwarming tot temperaturen tussen 41 en 47°C gebruikt, hoog genoeg om effect te hebben op de tumorgroei, en laag genoeg om niet te veel schade door verwarming van omliggende weefsels te veroorzaken.

Met warmtegevoeligheid wordt in dit proefschrift het uiteindelijk kolonievormend vermogen bedoeld. Uit gegevens in de literatuur blijkt dat de warmtegevoeligheid van cellen op verschillende manieren te beïnvloeden is. De warmtegevoeligheid kan worden verhoogd door: aanpassing aan lagere groeitemperatuur, koude behandeling vooraf, "step-down" heating, gebrek aan nutrienten, lage omgevings pH, osmolariteitsveranderingen, vetzuur manipulatie, lokaal anaesthetica, alkoholen, thiolen, polyamines en chemotherapeutica. De warmtegevoeligheid kan worden verlaagd door: aanpassing aan hogere groeitemperatuur, inductie van thermotolerantie, vetzuurmanipulatie, polyhydroxy alkoholen, suikers, D₂O, en hoge druk.

Hyperthermie behandeling heeft vele effecten op cellulaire structuren en functies. Na hyperthermie zijn verhoging van het eiwitgehalte van de kern, verstoring van cytoskelet structuren en beschadigingen aan intracellulaire membraansystemen aangetoond. Ook DNA-synthese, RNA-synthese en eiwit-synthese stoppen direct na een warmtebehandeling.

Een groot aantal van de factoren die de warmtegevoeligheid van cellen beïnvloeden wijzen erop dat membraanstructuren in de cel, en speciaal de plasmamembraan, mogelijk de warmtegevoeligheid van de cel bepalen. Binnen die membraan zouden zowel de vetten als de eiwitten waaruit de membraan opgebouwd is bepalend kunnen zijn voor de warmtegevoeligheid van de cel.

De vloeibaarheid van de plasmamembraan, die mede bepaald wordt door de membraansamenstelling, werd bepalend beschouwd voor de warmtegevoeligheid van de cel. Daarbij werd gedacht aan het "smelten" van de lipiden (vetten) in het membraan tot een kritieke vloeibaarheid. In hoofdstuk 2 van dit proefschrift konden wij aantonen dat de vetsamenstelling en de vloeibaarheid van de cellulaire membranen niet de enige factor kan zijn die de warmtegevoeligheid van cellen bepaalt. De warmtegevoeligheid was wel te beïnvloeden door de vetzuursamenstelling te veranderen, maar verandering van het

ch
ge
he
ve
me
bet
con
het
pla
laa
wor
op
K+
Verl
zou
late
met
verli
expe
hield
memb
een
tusse
Met
aange
celov
relati
pH r
het
warmt
Het
oorza
mogel
uitges
niet
de m
kan
algem
gemet
hyper
besch
memb
zijn o

cholesterolgehalte had geen verandering van de warmtegevoeligheid tot gevolg, iets dat wel in de literatuur gesuggereerd was. Het was helemaal duidelijk dat cellen die sterk in warmtegevoeligheid verschillen, namelijk normale en thermotolerante cellen, niet in membraansamenstelling of membraanvloeibaarheid verschillen. Dit betekent dat membraaneiwitten overblijven als mogelijk warmtegevoelige component van de plasmamembraan. In hoofdstuk 3 onderzochten wij het effect van warmte op het eiwit Na^+/K^+ ATPase, een ionenpomp in de plasma membraan, die er voor zorgt dat de Na^+/K^+ verhouding in de cel laag blijft. Wij konden aantonen dat Na^+/K^+ ATPase niet beschadigd wordt door hyperthermiebehandelingen die al wel een duidelijk effect op de celoverleving hebben. In hoofdstuk 4-6 is de relatie tussen het K^+ gehalte in de cel en de celoverleving na hyperthermie bestudeerd. Verlies van K^+ als gevolg van een algemene permeabiliteitsverandering zou celdood tot gevolg kunnen hebben. Wij konden in hoofdstuk 4 en 5 laten zien dat het K^+ gehalte 16 uur na hyperthermie goed correleert met de celoverleving. Daarmee was echter nog niet aan te geven, of K^+ verlies een oorzaak of een gevolg van de celdood was. Uit de experimenten in hoofdstuk 6 bleek dat de correlatie niet altijd stand hield. Verlies van K^+ kan worden beschouwd als gevolg van algemene membraanschade die optreedt na celdood door hyperthermie, en niet als een oorzaak van hypertherme celdood. In hoofdstuk 7 werd de relatie tussen regulatie van de interne pH en hypertherme celdood bestudeerd. Met een remmer van het belangrijkste pH regulatiemechanisme werd aangetoond dat een intacte pH regulatie van belang is voor celoverleving na hyperthermie. Vooral thermotolerante cellen waren relatief gevoelig voor hyperthermie in combinatie met remming van de pH regulatie. Mogelijk is in thermotolerante cellen de activiteit van het pH regulatiemechanisme verhoogd of is de pH regulatie minder warmtegevoelig.

Het grote aantal effecten van warmte maakt het onderzoek naar de oorzaak van warmtedood moeilijk. In dit proefschrift konden een aantal mogelijke oorzaken, zoals die in de literatuur gesuggereerd werden, uitgesloten worden. De membraansamenstelling en vloeibaarheid zijn niet direct bepalend voor de warmtegevoeligheid. Door verandering van de membraanvloeibaarheid kan de warmtegevoeligheid wel iets beïnvloed kan worden. Warmtegevoeligheid van het enzym Na^+/K^+ ATPase of een algemene permeabiliteitsverandering van het plasmamembraan zoals gemeten door K^+ verlies kunnen geen algemene oorzaak zijn van hypertherme celdood. Ondanks dat kan de plasma membraan nog steeds beschouwd worden als de warmtegevoelige celstructuur. Een of enige membraaneiwitten, misschien die welke betrokken zijn bij pH regulatie, zijn de belangrijkste kandidaten als meest warmtegevoelige component.

23.343
1987